



## CUANTIFICACIÓN DEL FLAVONOIDE QUERCETINA EN MIEL DE *Apis mellifera*, MEDIANTE DMFS – UV-Vis

## QUANTIFICATION OF QUERCETIN FLAVONOID ON *Apis mellifera* HONEY, USING MSPD- UV-Vis

BECERRA, Rubén <sup>1</sup>; CONDE José <sup>1</sup>, CARDONA Yaneth <sup>2</sup> y TORRES, Alexandra <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Estudiante del programa de Química, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad de Pamplona.

<sup>2</sup> Docente del programa de Química Facultad de Ciencias Básicas, Universidad de Pamplona.

### RESUMEN

Este trabajo permitió encontrar el protocolo adecuado para la extracción del flavonoide quercetina en miel producida por la especie *Apis Mellifera*, obtenida en Carmen de Tonchalá, Norte de Santander. Se establecieron los valores para los parámetros de la técnica dispersión de matriz en fase sólida (DMFS) como: cantidad de muestra, tipo y cantidad de: dispersante, fase estacionaria, y solvente de extracción. La cantidad de quercetina en la muestra se determinó mediante espectrometría UV-Vis. El protocolo más adecuado fue: 0,5 gramos de miel que se trataron con 0,2 gramos del dispersante gel de sílice y 0,4 g de fase estacionaria, además de 4 mL de metanol como eluyente. La cantidad de quercetina encontrada en la miel de *Apis mellifera* es similar a la reportada por otros investigadores mediante la metodología de extracción en fase sólida (SFE).

### Palabras claves

Flavonoides, quercetina, miel, dispersión de matriz en fase sólida, UV-Vis.

### Abstract

This work allowed us to find the appropriate protocol for the extraction of quercetin flavonoid in honey produced by the species *Apis Mellifera*, obtained in Carmen de Tonchalá, Norte de Santander. The values for the solid phase matrix dispersion technique (DMFS) were determined as: honey amount, type and amount of: dispersant, stationary phase, and extraction solvent. The amount of quercetin in honey was determined by UV-Vis spectrometry. The most suitable protocol was: 0.5 grams of honey, treated with: 0.2 grams of silica gel, 0.4 grams of stationary phase, and 4 ml of methanol as the eluent. The amount of quercetin found in *Apis mellifera* honey using the protocol described above, is similar to that reported by other researchers using the solid phase extraction (SFE) methodology.

### Key words

Flavonoids, quercetin, honey, solid phase dispersion matrix, UV-Vis.

## I. INTRODUCCIÓN

Las abejas son los principales vectores de polinización del mundo, permitiendo la producción de semillas y frutos, entre las más abundantes, se encuentran las abejas pertenecientes al género *Apis mellifera*, conocidas comúnmente como abejas de miel, debido a que son las mayores productoras de este alimento. Estas abejas fueron introducidas al continente americano en la época de la colonización y debido a su docilidad se cultivaron rápidamente (Muñoz-Rodríguez, 2005; Nates-Parra, 2005).

La miel producida por las abejas está compuesta por aproximadamente 200 sustancias, sus componentes principales son agua y azúcares simples o monosacáridos y sus componentes minoritarios son compuestos nitrogenados, minerales, vitaminas, ácidos orgánicos, proteínas, aminoácidos, enzimas, polen y compuestos fenólicos (ácidos fenólicos y flavonoides) (Fahim, Dasti, Ali, Ahmed, & Nadeem, 2014; Karabagias et al., 2014; Özcan & Ölmez, 2014; Tornuk et al., 2013).

La legislación relacionada con este alimento, establece los requisitos sanitarios que debe cumplir para consumo humano y los criterios de calidad de la misma, los cuales se determinan principalmente por sus características químicas, físicas y sensoriales. Estos criterios se encuentran especificados por la Directiva 2014/63/UE del Parlamento Europeo, del Consejo de la Unión Europea y del Codex Alimentarius que han fijado estándares con normas de calidad y parámetros muy estrictos, los cuales son exigidos por los órganos de control para garantizar la inocuidad de los alimentos. A nivel nacional, es la norma técnica Colombiana NTC 1273 la encargada de regular los parámetros de todos los tipos de formas de presentación de la miel que se ofrecen para el consumo directo en nuestro país, entre los parámetros fisicoquímicos contemplados, se encuentra la medición de contenido de hidroximetilfurfural, humedad, cenizas, azúcar aparente, pH y acidez, entre otros (Alimentarius, 2001; Unión Europea, 2014; Icontec Internacional, 2007).

Entre los componentes minoritarios introducidos en la miel por las abejas, se encuentran los flavonoides, que son metabolitos secundarios, cuya fuente puede ser el néctar floral, polen y diferentes exudados de plantas (Alvarez-Suarez et al., 2012; Alvarez-Suarez, Tulipani, Romandini, Bertoli & Battino, 2009; Alvarez-Suarez, Giampieri & Battino, 2013; Muñoz, Copaja, Speisky, Peña & Montenegro, 2007). Estos compuestos se caracterizan principalmente por tener propiedades antioxidantes (Pari, Karthikeyan, Karthika & Rathinam, 2015) y por su relación con la capacidad antibacteriana (Fu et al., 2017).

La extracción de flavonoides se ha llevado a cabo por metodologías clásicas y modernas como extracción en fase sólida (EFS) y micro-extracción en fase sólida (MEFS) (Cao et al., 2016; de Rijke et al., 2006; Liu, Zhang, Guo & Qiu, 2016; Wang et al., 2014), (Checa Rojas & Rojas Alvarado 2014); sin embargo, al comparar estas técnicas en cuanto al porcentaje de recuperación, costo y contaminación debida al empleo de solventes, se observa que la técnica dispersión de matriz en fase sólida (DMFS), podría ser una buena alternativa para la extracción de estos compuestos en la miel (de Rijke et al., 2006). Una vez extraídos los flavonoides de la matriz (miel), pueden ser cuantificados, empleando espectrometría de UV-vis, debido a la conjugación que presentan estos compuestos en su estructura (Muñoz, Copaja, Speisky, Peña & Montenegro,

2007). En este trabajo se determinó la cantidad del flavonoide quercetina en miel de *Apis Mellifera*, mediante DMFS – UV-Vis, variando los valores de los parámetros de la técnica, hasta encontrar los más adecuados del modelo dinámico (Gualdrón Guerrero & Torres Chavéz 2013).

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Muestreo y almacenamiento.

La muestra de miel se recolectó mediante la metodología establecida en apicultura, de una colmena ubicada en Carmen de Tonchalá. Una vez recolectada la muestra, se almacenó a temperatura ambiente en un recipiente de vidrio, protegido de la luz, según lo recomendado por Algarni, A. (2014), Pasini, F. *et al.*, (2013), Terrab A, *et al.*, (2002) y Karabagias, I. *et al.*, (2014) (Karabagias, Badeka, Kontakos, Karabournioti & Kontominas, 2014; Pasini, Gardini, Marazzan & Caboni, 2013; Ribeiro, *et al.*, 2014; Terrab, Díez & Heredia, 2002; Terrab, Recamales, Hernanz & Heredia, 2004).

### 2.2 Instrumentos, materiales y reactivos

Para el presente estudio se empleó el estándar analítico de quercetina (Fluka®), y los reactivos grado analítico: gel de sílice (Merck®), alúmina (Sigma®), carbón activado (Sigma®), metanol (Merck®), diclorometano (Merck®), acetato de etilo (Panreac) y sulfato de sodio anhidro (Merck®). Para la cuantificación del flavonoide se utilizó un espectrofotómetro UV-Vis, Shimadzu (UV-2401PC).

### 2.3 Variación de las condiciones de extracción (Desarrollo del método de extracción).

Los parámetros que se variaron para el proceso de extracción de quercetina en miel, fueron: cantidad de muestra de miel (0,5 y 0,7g), tipo de dispersante (gel de sílice y alúmina) y cantidad (0,1 g; 0,2 g y 0,3 g), tipo de fase estacionaria (gel de sílice, alúmina, carbón activado) y cantidad (0,2 g; 0,3 g; 0,4 g y 0,5g), y tipo de disolvente (metanol, diclorometano, acetato de etilo y mezclas 1:1 de metanol:agua y diclorometano:acetato de etilo) y cantidad (4; 5 y 6 mL).

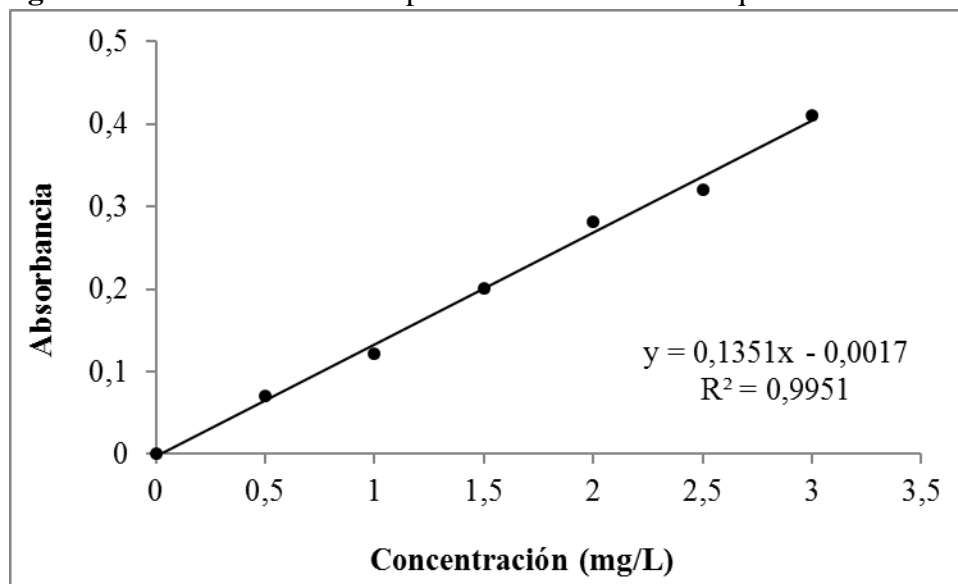
### 2.4 Variación de las condiciones de extracción (Desarrollo del método de extracción).

El procedimiento general consistió en tomar una muestra de miel y macerarla con una cantidad variable de dispersante en un mortero de ágata. Esta mezcla se adicionó a un cartucho (jeringa desechable de 5 mL), el cual contenía en su interior una capa de algodón, una capa de sulfato de sodio anhidro y una cantidad variable de fase estacionaria. Una vez adicionada la mezcla, se añadió una nueva capa de sulfato de sodio anhidro y otra de algodón y se compactó, eluyendo al vacío con un volumen variable de solvente. Este procedimiento se repitió variando los parámetros: cantidad de muestra (0,5 y 0,7g), tipo de dispersante (gel de sílice y alúmina) y cantidad (0,1 g; 0,2 g y 0,3 g), tipo de fase estacionaria (gel de sílice, alúmina, carbón activado) y cantidad (0,2 g; 0,3 g; 0,4 g y 0,5g) y tipo de disolvente (metanol, diclorometano, acetato de etilo y mezclas 1:1 de metanol:agua y diclorometano:acetato de etilo) y cantidad (4; 5 y 6 mL). Las soluciones obtenidas se leyeron en el espectrofotómetro UV-vis, Shimadzu (UV-2401PC), a 510 nm para determinar la absorbancia y determinar la cantidad de quercetina en las muestras.

### III.Resultados

Para la cuantificación de quercetina en miel se realizó la curva de calibración (figura 1) con soluciones acuosas de diferentes concentraciones (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 y 3,0 mg/L), utilizando el estándar analítico de quercetina (Fluka®). En la tabla 1 se presentan las concentraciones de quercetina encontradas en las diferentes soluciones, al variar los parámetros en la técnica de extracción.

**Figura 1.** Curva de calibración para la determinación de quercetina en miel.



**Tabla 1.** Resultados obtenidos de concentración de quercetina variando el tipo y cantidad de los diferentes parámetros.

Ensayo	Valor del parámetro	Concentración de quercetina (mg/L)
Cantidad de muestra	0,5g	0,66 ± 0,22
	0,7g	0,31 ± 0,33
Dispersante	Gel de sílice	0,66 ± 0,22
	Alúmina	0,46 ± 0,06
Cantidad de dispersante	0,1g	0,07 ± 0,00
	0,2g	0,66 ± 0,22
	0,3g	0,64 ± 0,81
Fase estacionaria	Gel de sílice	0,66 ± 0,22

	Alúmina	$0,47 \pm 0,06$
	Carbón activado	$0,34 \pm 0,35$
Cantidad de fase estacionaria	0,2g	$0,12 \pm 0,03$
	0,3g	$0,32 \pm 0,05$
	0,4g	$1,16 \pm 0,03$
	0,5g	$0,66 \pm 0,22$
	Metanol	$1,31 \pm 0,06$
Eluyente	Metanol:agua (1:1)	$0,07 \pm 0,03$
	Diclorometano	$0,16 \pm 0,01$
	Acetato de etilo	$0,09 \pm 0,02$
	Diclorometano:acetato de etilo (1:1)	$0,07 \pm 0,00$
Cantidad de eluyente	4mL	$1,31 \pm 0,06$
	5mL	$0,11 \pm 0,07$
	6mL	$0,07 \pm 0,00$

#### IV.CONCLUSIONES Y DISCUSIÓN

##### 4.1 Cantidad de muestra

Se encontró que al emplear 0,5g de miel, la cantidad de quercetina extraída es mayor que al emplear 0,7g; tal como se muestra en la tabla 1. Esto puede deberse a que la cantidad de 0,7 gramos es excesiva para el cartucho, lo cual ocasiona pérdidas y conlleva a un proceso de extracción pobre. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, se eligió trabajar con 0,5g de miel y variar los demás parámetros (dispersante, fase estacionaria y eluyente)

##### 4.2 Tipo y cantidad del dispersante y de la fase estacionaria

Como se puede observar en la tabla 1, el dispersante que presentó los mejores resultados fue la gel de sílice, razón por la cual se varió su cantidad, eligiendo 0,2 gramos como la cantidad adecuada, al ser mayor la concentración de quercetina obtenida ( $0,66 \pm 0,22$  mg/L).

Con respecto a la fase estacionaria, se encontró una mayor concentración del flavonoide, al emplear gel de sílice; por lo cual, se evaluó su cantidad, encontrando que 0,4 gramos de la misma, arroja mejores resultados:  $1,16 \pm 0,03$  mg/L de quercetina.

La gel de sílice y la alúmina son adsorbentes polares, por tanto la quercetina, perteneciente a los flavonoides apolares, eluye en mayor cantidad y a mayor velocidad al emplearlas como fase estacionaria. Los materiales derivados de la sílica son los más empleados en la disrupción de la matriz en la técnica DMFS, para la extracción de diversos compuestos; debido a que presentan la ventaja de poseer grupos silanoles no enlazados, tanto en la superficie de las partículas como en los poros, los cuales interaccionan con la humedad de la muestra, actuando a su vez como agente desecante (Chaparro, 2014; Romano, 2009).

#### 4.3 Tipo y cantidad del eluyente

Se encontró que el metanol es el eluyente que arroja mayores resultados de concentración de quercetina ( $1,31 \pm 0,06$  mg/L), seguido del diclorometano ( $0,16 \pm 0,01$  mg/L), acetato de etilo ( $0,09 \pm 0,02$  mg/L) y mezclas 1:1 metanol agua ( $0,07 \pm 0,03$  mg/L) y acetato de etilo:diclorometano ( $0,07 \pm 0,0$  mg/L). Con respecto a la cantidad de metanol, se encontró que un volumen de 4mL es adecuado para el proceso de extracción de quercetina ( $1,31 \pm 0,06$  mg/L).

La polaridad del solvente utilizado para la elución en la extracción mediante DMFS es de vital importancia, pues se relaciona con la velocidad y el orden de elución de los analitos a través del cartucho, tal como ocurre con el eluyente en cromatografía o en la técnica extracción en fase sólida (EFS). La adecuada elección del solvente y su volumen (perfil de elución), permiten obtener extractos libres de impurezas por la retención de las mismas en la fase estacionaria, tal como ocurrió en este estudio al emplear 4mL de metanol (Capriotti, 2010).

#### 4.4 Protocolo establecido y cantidad de quercetina en miel

El protocolo encontrado como adecuado en este estudio es: 0,5 gramos de miel, deben macerarse con 0,2 gramos de dispersante (gel de sílice) e introducirse en un cartucho (jeringa de 5mL) que tiene una capa de algodón, una capa de sulfato de sodio anhidro y una capa de fase estacionaria (0,5 g de gel de sílice), ubicando sobre la mezcla una capa de sulfato de sodio anhidro y otra de algodón. Una vez armado el cartucho, se debe proceder a eluir al vacío, utilizando 4mL de metanol.

#### 4.5 Cantidad de quercetina en miel y comparación con otros protocolos y resultados

En los últimos años se han desarrollado algunas investigaciones en mieles monoflorales de *Apis mellifera* en países como Túnez, Australia y Nueva Zelanda, encontrando cantidades de quercetina variables, dependiendo del origen floral de la misma; que oscilan entre 0,03 mg/100g y 1,10 mg/100g, aproximadamente (Martos, Cossentini, Ferreres & Tomás Barberán, 1997; Yao et al., 2003; Yao, Jiang, D'arcy, et al., 2004; Yao Jiang, Singanusong, et al., 2004). Al comparar estos valores con la concentración de quercetina encontrada en la miel producida por la especie *Apis mellifera*, en Carmen de Tonchalá, Norte de Santander (1,05 mg/100g), se encuentra que esta concentración está dentro del rango reportado y muy cerca del máximo (1,10 mg/100g); lo cual indica que la miel posee una cantidad considerable del flavonoide quercetina y adicionalmente la técnica DMFS con los parámetros escogidos, resulta adecuada para su extracción en muestras de miel, con posterior determinación mediante espectrometría de UV-Vis.

#### Trabajos futuros

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, se propone validar la metodología encontrada como la más adecuada en este trabajo, para determinar el límite de detección y cuantificación. Adicionalmente, se desea estudiar la cantidad de quercetina en mieles producidas por otros géneros de abejas como melipona y trigona (abejas sin aguijón).



## Referencias

- Alimentarius, C. d. C. (2001). Codex standard for honey
- Alvarez-Suarez, J. M., Giampieri, F., & Battino, M. (2013). Honey as a source of dietary antioxidants: structures, bioavailability and evidence of protective effects against human chronic diseases. *Current medicinal chemistry*, 20(5), 621-638.
- Alvarez-Suarez, J. M., Giampieri, F., Gonzalez-Paramas, A. M., Damiani, E., Astolfi, P., Martinez-Sanchez, G., . . . Battino, M. (2012). Phenolics from monofloral honeys protect human erythrocyte membranes against oxidative damage. *Food Chem Toxicol*, 50(5), 1508-1516. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2012.01.042>
- Alvarez-Suarez, J. M., Tulipani, S., Romandini, S., Bertoli, E., & Battino, M. (2009). Contribution of honey in nutrition and human health: a review. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 3(1), 15-23. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s12349-009-0051-6>
- Cao, W., Hu, S. S., Ye, L. H., Cao, J., Pang, X. Q., & Xu, J. J. (2016). Trace matrix solid phase dispersion using a molecular sieve as the sorbent for the determination of flavonoids in fruit peels by ultra-performance liquid chromatography. *Food chemistry*, 190, 474-480. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.133>
- Capriotti, A. C., C.; Giansanti, P.; Gubbiotti, R.; Samperi, R.; Laganà, A. (2010). Recent developments in matrix solid-phase dispersion extraction. *J. Chromatogr. A*, 1217, 2521-2532. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2010.01.030>
- Chaparro, A. L., Gamboa, D. P., Cardona, Y. Bustamante, J. J., García C. H. (2014). Desarrollo y validación de un método verde para la extracción y cuantificación de residuos de cipermetrina en tejido animal. *Revista Colombiana de Química*, 43(1), 25-29. doi: <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v43n1.50537>
- Diego Checa Rojas, Oscar Rojas Alvarado. (2014). Ontología para los sistemas holónicos de manufactura basados en la unidad de producción. RCTA, ISSN 1692-7257 vol. 1, núm. 23.
- de Rijke, E., Out, P., Niessen, W. M., Ariese, F., Gooijer, C., & Udo, A. T. (2006). Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of Chromatography A*, 1112(1), 31-63. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2006.01.019>
- Fahim, H., Dasti, J. I., Ali, I., Ahmed, S., & Nadeem, M. (2014). Physico-chemical analysis and antimicrobial potential of A pis dorsata, A pis mellifera and Z iziphus jujube honey samples from Pakistan. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(8), 633-641. doi: <http://dx.doi.org/10.12980/APJTB.4.2014APJTB-2014-0095>
- Fu, M., Xu, Y., Chen, Y., Wu, J., Yu, Y., Zou, B., Xiao, G. (2017). Evaluation of bioactive flavonoids and antioxidant activity in Pericarpium Citri Reticulatae (Citrus reticulata 'Chachi') during storage. *Food Chemistry*. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.098>
- Icontec Internacional (2007). NORMA TÉCNICA COLOMBIANA NTC 1273. Miel de abejas.
- Karabagias, I. K., Badeka, A. V., Kontakos, S., Karabournioti, S., & Kontominas, M. G. (2014). Botanical discrimination of Greek unifloral honeys with physico-chemical and chemometric analyses. *Food Chemistry*, 165, 181-190. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.033>
- Karabagias, I. K., Vavoura, M. V., Nikolaou, C., Badeka, A. V., Kontakos, S., & Kontominas, M. G. (2014). Floral authentication of Greek unifloral honeys based on the combination of

- phenolic compounds, physicochemical parameters and chemometrics. *Food Research International*, 62, 753-760. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.04.015>
- Liu, H., Zhang, M., Guo, Y., & Qiu, H. (2016). Solid-phase extraction of flavonoids in honey samples using carbamate-embedded triacontyl-modified silica sorbent. *Food chemistry*, 204, 56-61. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.102>
- Martos, I., Cossentini, M., Ferreres, F., & Tomás-Barberán, F. A. (1997). Flavonoid composition of Tunisian honeys and propolis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(8), 2824-2829. doi: <https://doi.org/10.1021/jf9609284>
- Muñoz, O., Copaja, S., Speisky, H., Peña, R. C., & Montenegro, G. (2007). Contenido de flavonoides y compuestos fenólicos de mieles chilenas e índice antioxidante. *Química Nova*, 30, 848-851. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422007000400017>
- Muñoz Rodríguez, A. F., Yuste, A., & Labrador Moreno, J. (2005). Polinización de cultivos.
- Nates-Parra, G. (2005). Abejas silvestres y polinización. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*, 75, 7-20.
- Özcan, M. M., & Ölmez, Ç. (2014). Some qualitative properties of different monofloral honeys. *Food Chemistry*, 163, 212-218. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.072>
- Pari, L., Karthikeyan, A., Karthika, P., & Rathinam, A. (2015). Protective effects of hesperidin on oxidative stress, dyslipidaemia and histological changes in iron-induced hepatic and renal toxicity in rats. *Toxicology Reports*, 2, 46-55. doi: <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2014.11.003>
- Oscar Eduardo Gualdrón Guerrero, Ivaldo Torres, (2013). "Identificación de un modelo dinámico del generador de vapor de la caldera en la planta termotasajero colgener". RCTA, ISSN 1692-7257, v.1 p.52 – 59.
- Pasini, F., Gardini, S., Marazzan, G. L., & Caboni, M. F. (2013). Buckwheat honeys: screening of composition and properties. *Food Chem*, 141(3), 2802-2811. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.102>
- Ribeiro, R. d. O. R., Mársico, E. T., Carneiro, C. d. S., Monteiro, M. L. G., Júnior, C. C., & Jesus, E. F. O. d. (2014). Detection of honey adulteration of high fructose corn syrup by Low Field Nuclear Magnetic Resonance (LF 1H NMR). *Journal of Food Engineering*, 135, 39-43. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.03.009>
- Romano, M. B. A. (2009). Determinación de residuos de contaminantes orgánicos en miel y zumos. . Doctoral, Universidad Complutense de Madrid.
- Terrab, A., Díez, M. J., & Heredia, F. J. (2002). Characterisation of Moroccan unifloral honeys by their physicochemical characteristics. *Food Chemistry*, 79(3), 373-379. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00189-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00189-9)
- Terrab, A., Recamales, A. F., Hernanz, D., & Heredia, F. J. (2004). Characterisation of Spanish thyme honeys by their physicochemical characteristics and mineral contents. *Food Chemistry*, 88(4), 537-542. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.01.068>
- Tornuk, F., Karaman, S., Ozturk, I., Toker, O. S., Tastemur, B., Sagdic, O., Kayacier, A. (2013). Quality characterization of artisanal and retail Turkish blossom honeys: Determination of physicochemical, microbiological, bioactive properties and aroma profile. *Industrial Crops and Products*, 46, 124-131. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.12.042>
- Unión Europea. (2014). Directiva 2014/63/UE por la que se modifica la Directiva 2001/110/CE relativa a la miel.





- Wang, Z., Sun, R., Wang, Y., Li, N., Lei, L., Yang, X., Zhang, H. (2014). Determination of phenolic acids and flavonoids in raw propolis by silica-supported ionic liquid-based matrix solid phase dispersion extraction high performance liquid chromatography-diode array detection. *Journal of Chromatography B*, 969, 205-212. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchromb.2014.08.022>
- Yao, L., Datta, N., Tomás-Barberán, F. A., Ferreres, F., Martos, I., & Singanusong, R. (2003). Flavonoids, phenolic acids and abscisic acid in Australian and New Zealand *Leptospermum* honeys. *Food Chemistry*, 81(2), 159-168. doi: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00388-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00388-6)
- Yao, L., Jiang, Y., D'Arcy, B., Singanusong, R., Datta, N., Caffin, N., & Raymont, K. (2004). Quantitative high-performance liquid chromatography analyses of flavonoids in Australian *Eucalyptus* honeys. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(2), 210-214. doi: <https://doi.org/10.1021/jf034990u>
- Yao, L., Jiang, Y., Singanusong, R., D'Arcy, B., Datta, N., Caffin, N., & Raymont, K. (2004). Flavonoids in Australian *Melaleuca*, *Guioa*, *Lophostemon*, *Banksia* and *Helianthus* honeys and their potential for floral authentication. *Food Research International*, 37(2), 166-174. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2003.11.004>

### **Agradecimientos**

Los autores agradecen a las auxiliares del laboratorio de control de calidad, a su director y a la Vicerrectoría de investigaciones.